Gélose Oxford

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose Oxford est un milieu sélectif utilisé pour la différenciation, l'isolement et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* dans le lait et les fromages, ainsi que dans les autres produits alimentaires, même fortement contaminés.

HISTORIQUE

Le milieu a été réalisé par Curtis *et al*. en 1988 pour l'isolement de *Listeria monocytogenes* à partir d'échantillons cliniques contenant une importante microflore contaminante. Dans la plupart des cas, les auteurs ont observé que les colonies de *Listeria* apparaissaient en 24 heures d'incubation et que les microorganismes associés étaient inhibés. Les études ont été fondées sur les travaux de Rodriguez (1984) qui le premier a utilisé l'esculine et les sels ferriques afin de visualiser *Listeria monocytogenes* par son caractère esculinase-positive. Cependant, beaucoup des milieux sélectifs pour *Listeria* qui contenaient de l'esculine, laissaient également cultiver les entérocoques. Curtis *et al*. ont démontré qu'en présence de chlorure de lithium, d'acriflavine, de cycloheximide, de colistine, de céfotétan et de fosfomycine, la microflore secondaire était inhibée.

PRINCIPES

- La polypeptone favorise l'excellente croissance des *Listeria*.
- L'extrait de levure est une source du complexe vitaminique B.
- L'amidon représente la source énergétique du développement.
- Le chlorure de sodium maintient l'équilibre osmotique.
- Les *Listeria* hydrolysent l'esculine en glucose et en esculétine. Ce dernier composé forme un complexe noir en présence des ions ferriques apportés par le citrate de fer.
- La microflore de contamination est inhibée par l'association réalisée entre le chlorure de lithium, le cycloheximide, la colistine, le céfotétan, la fosfomycine et l'acriflavine.

PREPARATION

- Mettre en suspension 58,5 g de milieu de base déshydraté (BK110) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en flacons, à raison de 100 mL par flacon.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

NOTA :

Une liquéfaction partielle de l'agar entraînera inévitablement une altération significative de la consistance du gel du milieu solidifié, après stérilisation et refroidissement.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : +33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : +33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

MODE D'EMPLOI

- Faire fondre le milieu (s'il est préparé à l'avance).
- Refroidir et maintenir à 44-47°C.
- Ajouter stérilement 1 mL de supplément CCCFA reconstitué (BS003) à 100 mL de milieu de base.
- Homogénéiser parfaitement.
- Couler en boîtes de Petri stériles.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Pour effectuer un dénombrement, transférer 0,1 mL de l'échantillon à analyser et de ses dilutions décimales successives à la surface des boîtes ainsi préparées. Etaler l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur stérile.
- Dans le cas d'une recherche, effectuer un isolement au moyen d'une anse bouclée, à partir d'un bouillon d'enrichissement sélectif.
- Incuber à 37°C pendant 24 et 48 heures.

LECTURE

Après 24 heures d'incubation, *Listeria monocytogenes* forme des colonies vert-olive entourées d'un halo noir. Après 48 heures, elles deviennent plus foncées avec un centre noir en creux et sont entourées de zones noires. La gélose Oxford est un milieu très sélectif, cependant il est parfois possible d'observer des colonies de staphylocoques ou d'entérocoques (qui cultivent légèrement en donnant une faible coloration jaune ou noire, généralement après 30 à 40 heures d'incubation). Les colonies suspectes seront soumises aux tests biochimiques d'identification.

FORMULE - TYPE du milieu complet

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Polypeptone ..... 20,0 g
- Extrait autolytique de levure ..... 3,0 g
- Amidon ..... 1,0 g
- Chlorure de sodium ..... 5,0 g
- Esculine ..... 1,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal ..... 0,5 g
- Chlorure de lithium ..... 15,0 g
- Cycloheximide ..... 400,0 mg
- Colistine (sulfate) ..... 20,0 mg
- Céfotétan ..... 2,0 mg
- Fosfomycine ..... 10,0 mg
- Acriflavine ..... 5,0 mg
- Agar agar bactériologique ..... 13,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,0 ± 0,2.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : +33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : +33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

CONTRÔLE QUALITE

- Milieu de base déshydraté : poudre beige, fluide et homogène.
- Milieu préparé (complet) : gélose jaune-vert à reflet bleuâtre.
- Réponse culturale typique après 24-48 heures d'incubation à 37°C :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)	Caractéristiques
Listeria monocytogenes	CIP 59.53	$P_R \geq 50\%$	colonies vert-olive entourées d'un halo noir
Listeria monocytogenes	CIP 79.31	$P_R \geq 50\%$	colonies vert-olive entourées d'un halo noir
Escherichia coli	ATCC® 25922	inhibée, score 0	
Enterococcus faecalis	ATCC 29212	inhibée, score 0	
Candida albicans	ATCC 10231	inhibée, score 0	

STOCKAGE / CONSERVATION

Milieu de base déshydraté : 2-30°C.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu de base préparé en flacons : 6 mois à 2-8°C (à titre indicatif).
- Milieu complet préparé en boîtes, avec supplément : 1 mois à 2-8°C, à l'obscurité (à titre indicatif).

Supplément sélectif pour gélose Oxford (CCCFA) :
- Stocker entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

PRESENTATION

	Code
Milieu de base déshydraté (sans cycloheximide, ni colistine, ni céfotétan, ni fosfomycine, ni acriflavine) :	
- Flacon de 500 g	BK110HA
Supplément sélectif pour gélose Oxford (CCCFA) :	
- Coffret de 10 flacons qsp 500 mL	BS00308

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : +33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : +33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

SUPPORT PHOTO :

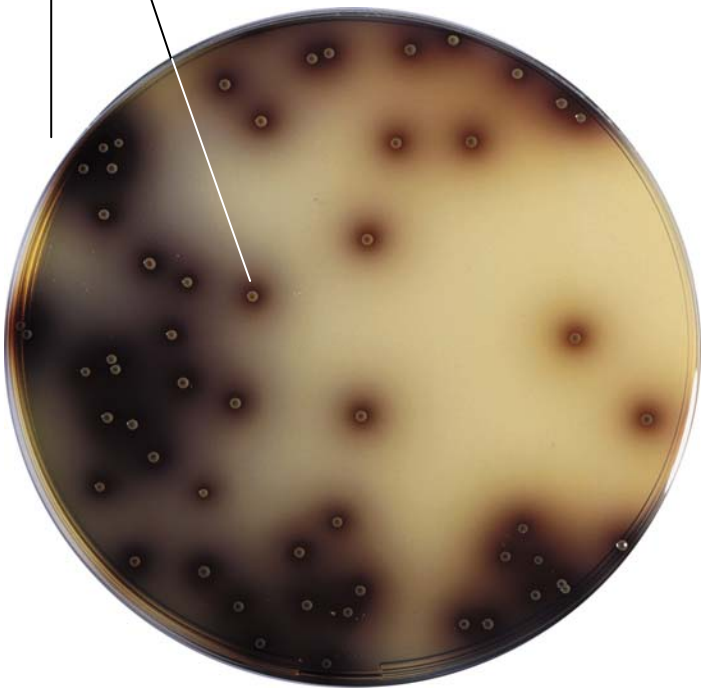
Référence : [BK110HA + BS00308]

Domaine d'utilisation : Isolement, dénombrement et différentiation de *Listeria monocytogenes.*

Listeria monocytogenes

Colonie caractéristique

Couleur vert olive à centre noir en creux
entourée d'un halo noir



Gélose Oxford

Réf : **[BK110HA + BS00308]**

Incubation 48 heures à 37°C (surface)

Colonies caractéristiques vert olive à centre noir en creux entourées d'un halo noir (hydrolyse de l'esculine)

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : +33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : +33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Curtis G.D.W., Mitchell R.G., King A.F., and Griffin E.J. 1989. A selective differential medium for the isolation of *Listeria monocytogenes*. Letters in Appl. Microb., 8: 95-98.

Curtis G.D.W., Nichols W.W., and Falla T.J. 1989. Selective agents for *Listeria* can inhibit their growth. Letters in Appl. Microb., 8: 169-172.

Tiwari, N.P. and Aldenrath S.G. 1990. Isolation of *Listeria monocytogenes* from Food Products on Four Selective Plating Media. Journ. of Food Protection, 53: 382-385.

Journal Officiel du 7 Avril 1992. Contrôle microbiologique des produits végétaux ou d'origine végétale. (arrêté du 13 mars 1992).

NF EN ISO 11290-1 (V 08-028-1). Février 1997. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes.* Partie 1 : Méthode de recherche.

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

NF EN ISO 11290-1/A1 (V 08-028-1/A1). Février 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes.* Partie 1 : Méthode de recherche. Amendement 1 : Modification des milieux d'isolement, de la recherche de l'hémolyse et introduction de données de fidélité.

Les mentions portées sur l'étiquette sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2010-01-11.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.
Code document : BK110/F/2003-01 : 10.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : +33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : +33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr